Versuche zur quantitativen Auswertung der keimtötenden Kraft von Phenol mit Hilfe abgemessener Bakterienaufschwemmungen.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

VORGELEGT DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

ALBERT-LUDWIGS-UNIVERSITÄT

ZU

FREIBURG IM BREISGAU

VON

ERNST MEYER

MEDIZINALPRAKTIKANT

AUS

FREIBURG i. Baden.

ACAD. LUDW. RAT. BIBL.

FREIBURG i. B.

SPEYER & KAERNER

Universitätsbuchhandlung.

1911.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät zu Freiburg in Baden.

Der Dekan: Geh. Rat Prof. Dr. **v. Kries.**

Der Referent: Geh. Hofrat Prof. Dr. **Schottelius.**

Druck von A. Bonz' Erben in Stuttgart.

Meinen Eltern.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543126_0120

Der Kampf gegen die pathogenen Bakterien ist aufgenommen worden, seit man ihre Bedeutung als Krankheitsursache erkannt hat. Zu ihrer wirksamen Bekämpfung stehen uns zwei Möglichkeiten zur Verfügung. Die eine ist uns durch die Prophylaxe, die andere durch die Therapie gegeben. Die therapeutischen Maßnahmen bestehen darin, daß man die schon in den Organismus eingedrungenen pathogenen Bakterien zu vernichten sucht. Doch ist dieser Weg für den Organismus nicht immer unschädlich. Deshalb ist das beste Mittel im Kampfe gegen die pathogenen Bakterien die Prophylaxe, d. h. man sucht möglichst zu verhüten, daß diese in den Körper eindringen. Dieses Ziel sucht z. B. die Chirurgie in der Asepsis und Antisepsis zu erreichen. Die Asepsis will möglichste Keimfreiheit durch physikalische Mittel erlangen, während die Antisepsis durch chemische und mechanische Mittel die pathogenen Bakterien unschädlich zu machen sucht. Da die Bakterien auch außerhalb des menschlichen Körpers leben können, so trachtet man darnach, sie auch hier zu vernichten. Das Verfahren, dessen man sich zu ihrer Unschädlichmachung bedient, nennt man Desinfektion und die Mittel Desinfektionsmittel. Das Suchen und Verlangen nach Desinfektionsmittel, die für die Bakterien möglichst schädlich, für den menschlichen Organismus aber unschädlich sind, war immer vorhanden und ist heute noch so groß wie je. Jedes Desinfektionsmittel muß natürlich erst auf seine baktericide Eigenschaft geprüft werden.

Im folgenden möchte ich zunächst die hauptsächlichsten der bis dahin üblichen Verfahren zur Wertbestimmung einiger Desinfektionsmittel schildern.

Schneider prüfte einige Phenolabkömmlinge auf ihre Desinfektionskraft. Das Phenol selbst gehört zu den aromatischen Kohlenwasserstoffen, bei dem ein Kernwasserstoff durch eine OH-Gruppe ersetzt ist, es ist also einwertig. Seine desinfizierende Eigenschaft hat das Phenol dem Vorhandensein dieser OH-Gruppe zu verdanken. Die Phenollösung hat eine neutrale bis schwach saure Reaktion. Mit Alkalien bildet das Phenol leicht lösliche Salze, doch geht es auch mit Säuren Verbindungen ein, die als Säureester des Phenols bezeichnet werden. Die desinfizierenden Eigenschaften des Phenols kann durch Veränderung der OH-Gruppe verstärkt oder vermindert werden, je nachdem sich diese Gruppe mit Säuren oder Alkali bindet. Der Autor wies nach, daß die Desinfektionskraft von Veränderungen abhängig ist, die den Kernwasserstoff der Phenolmoleküls treffen. Zum Beispiel wenn eine SO_3H-Gruppe sich anlagert, tritt eine Verstärkung der Desinfektionskraft ein. Er ließ Bakterien (Milzbrandsporen) an Seidenfäden antrocknen, tauchte sie in das Desinfektionsmittel. Nach bestimmter Zeit wurden die zu desinfizierenden Fäden herausgenommen, mit sterilem Wasser oder Natronlauge zur Entfernung des noch anhaftenden Desinfektionsmittels abgespült, in Röhrchen mit alkalischer Bouillon oder in schwach alkalischen Agar gebracht und bei 37° Brutofentemperatur gehalten. Nach bestimmten Zeitabständen beobachtet man, ob Wachstumshemmuug eingetreten ist und beurteilt darnach die Desinfektionskraft.

Eine ähnliche Versuchsanordnung benutzten Remouchamps und Sugg. Sie machten vergleichende Versuche ebenfalls an mit Sporen infizierten Seidenfäden mit Lysol, Phenol und Kreolin. Dabei zeigte sich, daß 5% Phenol schon nach 24 Stunden Milzbrandsporen

abgetötet hat, wenn die Fäden in die Lösung hineinhingen, nicht aber, wenn sie auf dem Boden der verwendeten Glasschalen lagen. Versuche, bei denen die Sporenaufschwemmung direkt der Desinfektionslösung beigemengt waren, ergaben, daß 2 ccm einer 5% Lösung dieser Desinfektionsmittel auf das gleiche Volumen in Bouillon gewachsener suspendierter Milzbrandsporen keinen Einfluß hatten.

Die Seidenfäden halten infolge ihrer Oberflächenbeschaffenheit die Desinfektionslösung leichter zurück, wenn man sie auch gründlich von dem Desinfiziens gereinigt hat. Deshalb rät Walliczek zu Geweben aus Glaswolle. Statt Seidenfäden verwendete man auch Deckgläschen. Diese halten das Desinfektionsmittel nicht zurück, da es in die Substanz nicht eindringen kann. Nach Walliczeks Ansicht bleiben aber an Deckgläschen infolge von Verunreinigungen (Fettspuren etc.) ungleiche Mengen von Bakterien hängen. Diese Bakterien werden beim Überbringen in die Desinfektionslösung und in den Nährboden auch viel leichter und ungleichmäßiger abgespült. Das von Spirig angewandte Filtrierpapier hat den gleichen Fehler wie die Seidenfäden bezüglich des Zurückhaltens des Desinfektionsmittels. Das Glaswollgewebe dagegen hätte den Vorteil des Seidenfadens oder des Filtrierpapiers den Bakterien eine geeignete Oberfläche zu bieten, auf der gleichmäßiges und festes Anhaften auch ohne Antrocknung zu bewerkstelligen wäre; ferner den Vorteil der Deckgläschen leicht von dem überschüssigen Desinfektionsmittel befreit zu werden. Der Autor empfiehlt, so lange kein derartiges Glaswollgewebe eingeführt ist, folgende Regeln zu beachten:

I. Sind Bakterien gegen Eintrocknen resistent und

a) ist kein indifferentes Mittel zur Paralysierung des Desinfiziens vorhanden, so sind Deckgläschen zu verwenden,

b) ist ein indifferentes Mittel bekannt, so ist Filtrierpapier ohne vorherige Anordnung der Bakterien zu verwenden, bei Deckgläschen ist dies notwendig, um ein ungleiches Abspülen zu verhindern.

II. Sind Bakterien gegen Eintrocknen nicht resistent und

c) ist kein indifferentes Mittel in obigem Sinne bekannt, so wären Deckgläschen ohne vorhergehendes Antrocknen anzuwenden,

d) ist ein solches indifferentes Mittel bekannt, so ist Filtrierpapier ohne vorhergehendes Antrocknen zu wählen.

Diese Regeln sind bei dem Verfahren, das Geppert verwandte, nicht anwendbar. Dieser stellte sich zu seinen Versuchen eine Bakteriensuspension mit Wasser her. Er filtrierte diese Aufschwemmung durch sterile Glaswollfilter, bis eine wasserklare Suspension erzielt war. Etwa $^1/_2$ ccm dieser Aufschwemmung wird in 25 ccm des Desinfiziens gebracht und durch Umrühren verteilt. Nach einer bestimmten Zeit wird aus der Lösung jeweils $^1/_2$ ccm herausgenommen und in Schälchen gebracht, die vorher mit 25 ccm kochendem Wasser gefüllt und darauf abgekühlt waren. Geppert prüfte bei seinen Versuchen Sublimat auf seine Desinfektionskraft. Da Sublimat noch nachwirkt, auch wenn die Lösung in die Schalen gebracht ist, so muß es durch chemische Mittel unschädlich gemacht werden. Dazu benützte der Autor Schwefel-Ammonium. Aus den Schalen resp. der dünnen Schwefel-Ammoniumlösung werden einige Tropfen mit 8 ccm einer $^1/_2$% verflüssigten Agar-Gelatine vermischt. Diese Gelatine wird in den Brutschrank gestellt und nach dem jeweiligen Eintreten von Wachstum oder Hemmung auf die Desinfektionskraft des Sublimats geschlossen.

Als Grund für die Ursache der verschiedenen Resultate, die bei der Prüfung über den Wert der Des-

infizientien sich ergaben, führte Gruber auf dem Hygiene-Kongreß 1891 folgendes an:

1. Die außerordentlichen Differenzen in der Widerstandskraft der gleichen Bakterienart, wenn sie auf verschiedene Nährboden gezüchtet werden;

2. sind die Organismen, wenn sie den Wirkungen der Desinfizientien ausgesetzt sind, nicht unter günstige Wachstumsbedingungen gebracht worden;

3. sind die Desinfizientien nicht aus den Kulturversuchen entfernt und der Aufschub in ihrem Wachstum fälschlich als Tod gedeutet worden;

4. ist nicht genug Sorgfalt auf die Temperatur und das Medium, in dem die Organismen gedeihen, zugewandt worden;

5. Die Organismen sind nicht genügend in den Desinfizientien verteilt worden;

6. Durch die Vorliebe für Experimente mit Seidenfäden, an die die Organismen angetrocknet werden, hat man unzuverlässige Resultate erhalten, da das Desinfiziens sich nur schwierig entfernen läßt.

7. Endlich ist die Methode die Wirksamkeit von Desinfizientien durch Inokulation solcher Fäden in den Tierkörper zu prüfen, unsicher und unvollkommen.

Zur Vermeidung dieser Versuchsfehler ist Gruber folgendermaßen verfahren: Aus einer Kultur wurde eine so dicke Suspension hergestellt, daß auch von der 2000fachen Verdünnung noch jedes Tröpfchen mehrere tausend Keime enthielt. Die Suspension wurde filtriert und mit der Lösung des Desinfiziens versetzt und zwar zu einem Volumen das gleiche des Desinfektionsmittels von doppelter Konzentration. Nach bestimmten Zeiten wurden Tröpfchen des Gemisches in peptonisierte Fleischbrühe übertragen. Aus dieser ersten Verdünnung wurde eine zweite und ev. eine dritte in Bouillon angelegt, um der Gefahr der Entwicklungshemmung zu begegnen. Dieses Ziel wurde selbst bei Versuchen mit 5% Subli-

mat erreicht. Alle Aussaaten wurden bei Brutwärme gehalten und 10 Tage beobachtet. Stets wurde ein Teil der verwendeten Suspension zur Prüfung der Widerstandsfähigkeit mit einem bekannten Desinfiziens behandelt. So geprüft hatten gegen Milzbrandsporen die meisten geprüften Desinfektionsmittel versagt, selbst in den höchst gebräuchlichen Konzentrationen. Gegenüber Staphylococcus pyog. aureus bewährte sich am besten Phenol, Lysol und Kresol.

Eine Modifikation bei Benützung von Bakteriensuspension verwandte Bellei. Die Modifikation des Verfassers besteht darin, daß eine größere Menge ca. 50 ccm und mehr einer dichten Aufschwemmung der abzutötenden Keime mit dem Desinfektionsmittel vermischt, dauernd bei 18° C erhalten, und von Zeit zu Zeit eine Menge von 5—10 ccm zur weiteren Untersuchung in sterile Centrifugengläschen abpipettiert wurde; nach Zusatz des entsprechenden Gegenmittels zur Bindung des Desinfiziens, rief Bellei durch Zugabe einiger Tropfen einer 10% sterilen Dinatrium-Phosphatlösung und der zur Zersetzung des Phosphats nötigen Tropfenzahl einer ebenso hochprozentigen Calcium-Chloridlösung ein voluminösen Calcium-Phosphatniederschlag hervor, der die zuvor in der Flüssigkeit suspendierten Keime einschloß. Durch Centrifugieren bewirkte er darauf eine rasche Abscheidung von Niederschlag und Flüssigkeit. Der erstere wird nach Abgießen der Flüssigkeit mit steriler Bouillon überschichtet, verrührt und im Brutschrank eine Woche lang kontrolliert.

Ebenfalls Bakteriensuspensionen benützte Heiderich zu seinen Versuchen. Er mischte wässerige Bakteriensuspension, die durch Filtrieren von gröberen Partikeln befreit waren, mit dem zu untersuchenden Desinfiziens in solcher Konzentration und Menge, daß der gewünschte Gehalt an diesem erreicht war. In bestimmten Zeitabschnitten wurden mittels Platinösen

Proben in Bouillonröhrchen übertragen. Von dieser ersten Verdünnung wurden in neue Bouillonröhrchen 6 Ösen übertragen (2. Verdünnung). Die Röhrchen wurden 8—10 Tage in den Brutschrank gestellt und auf Wachstum beobachtet.

Auf andere Weise stellte sich Serpowsky eine Suspension von Bakterien her. Er untersuchte die desinfizierende Kraft von Brom, indem er Trinkwasser mit Typhusbazillen infizierte. Nach Schütteln des geimpften Wassers mit dem Desinfiziens, wurde dieses mittels des Schumburgschen Neutralisationsverfahren (Natr. sulfur. + Natr. carb. + H_2O) und konzentrierter Peptonlösung unschädlich gemacht. Nach 24 Stunden wurde das verwandte Wasser dem Thermostaten entnommen und auf das Vorhandensein von Typhusbazillen vermittelst Agargußplatten, Milchzucker-Agar, Lakmus-Agar etc. geprüft.

Von einem andern Gesichtspunkt ließ sich Rapp in seinem „Beitrag zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel“ leiten, der auch klinisch praktisches Interesse hat. Er läßt eine kleine Dosis eines Desinfiziens öfters auf viele Keime bei gleichzeitiger Gegenwart von Nährmaterial einwirken. Er vergleicht dies Verhältnis mit der Einwirkung von Antisepticis auf eiternde Wunden. Auch hier wächst eine größere Menge von Keimen auf günstigem Nährboden, bei dem die Antiseptica nur wenig haften bleiben. Zu einer 12stündigen Bouillonkultur von Staph. pyog. aur. wurde Sublimat zugesetzt; und zwar wurde es in der Weise gemischt, daß es mit der Staphylococcenkultur die Verdünnung 1 : 50 000 ergab. Nach 14—24—28 Stunden Brutschranktemperatur von 37° C wurde die Kultur auf ihren Keimgehalt quantitativ geprüft, indem eine Öse der Flüssigkeit auf schrägerstarrtem Fleischwasser-Agar verstrichen und bei 37° aufbewahrt wurde. Er benützte bei diesen Versuchen ältere und jüngere Staphylococcen-

kulturen, eine Aufschwemmung in Wasser und eine in Bouillon. Alle zeigten nach 14 Stunden eine Verminderung der Keimzahl, aber nach einer bestimmten Zeit erfolgte bei Gegenwart von Nährmaterial eine bedeutende Vermehrung; bei der Wassersuspension traten jedoch keine Keime mehr auf. Dieser Vorgang der Keimabnahme und Zunahme kann einigemal in der gleichen Kultur wiederholt werden. Erfolgt aber ein Zusatz von Sublimat in der Zeit, wo die Abschwächung ihren höchsten Grad erreicht hat, also nach ca. 14 Stunden, so findet keine neue Vermehrung mehr statt. Setzt man eine größere Menge von Sublimat auf einmal zu, so hat man wohl nach 24 Stunden eine rapide Keimverminderung, aber darnach eine starke Vermehrung. Der Verfasser kommt zu dem Schluß, daß durch kleine wiederholte Gaben von Sublimat, wenn sie zu der Zeit zugesetzt werden, wo die größte Schwächung der Keime stattgefunden hat, ein größerer Desinfektionseffekt hervorgerufen wird, als durch eine große Dosis oder eine solche, die erst angewendet wird, wenn wieder Bakterienvermehrung stattgefunden hat.

Die Größe der Verdünnung und die Anzahl der Zusätze, bis zur völligen Abtötung ergibt den Unterschied zwischen den Werten der einzelnen Desinfektionsmittel. Die Versuchsbedingungen haben nach Ansicht des Autors den Anforderungen zur Prüfung eines Desinfektionsmittels entsprochen, denn

1. ist die Widerstandskraft der benutzten Bakterien als gleich anzusehen,

2. die Zahl der Keime ist annähernd die gleiche gewesen,

3. für die Einwirkung des Desinfiziens war die Temperatur von 37° C gewählt,

4. die Übertragung des Desinfiziens ist durch diese Methode (4 Ösen auf 10 ccm Nährboden) eine so minimale, daß eine Beeinflussung durch das Desinfiziens

infolge des hohen Grades des Verdünnung nicht eingetreten ist,

5. die Bakterien wurden nach ihrer Entfernung aus der Desinfektionslösung auf einen günstigen festen Nährboden gebracht bei optimaler Wachstumstemperatur.

In ganz anderer Weise wird die Beurteilung der Desinfektionskraft eines Desinfiziens in England ausgeübt. Nach dem Bericht von Schneider u. Seeligmann, ist dort ein Verfahren im Gebrauch, der sog. Rideal-Walker-Test, der auch behördlich anerkannt wird. Darnach werden Bakterienemulsionen (Bakt. Coli) verwendet und als Prüfungsindex die Wirkung einer Karbolsäurelösung von bekannter Konzentration benützt.

Aus der Konzentration des zu prüfenden Mittels, das in gleicher Zeit wie die Phenol-Standardlösung die Testbakterien abtötet, berechnet man in England den Karbolcoëfizenten des neuen Mittels. Zu ihren eigenen Versuchen hatten die Verfasser folgende Methoden gewählt: Reagensröhrchen mit 10 ccm Bouillon gefüllt, wurden je mit einer Normalöse Staphylococcenkultur geimpft (24 stündige Bouillonkultur von Staph. pyog. aur.). Ein Röhrchen diente als Kontrolle, in die anderen kamen die Desinfektionsmittel in bestimmten Konzentrationen. Eine große Öse des Desinfiziens wurde der Bouillon zugesetzt, (30 Ösen = 1 ccm), so daß eine 0,33 % Lösung des Desinfiziens von seiner Ausgangslösung vorlag. Die Röhrchen kamen darauf 24 Stunden in den Brutschrank bei 37° und wurden nach Ablauf dieser Zeit kontrolliert. Zeigten sich deutliche Differenzen im Wachstum von Kontrolle und den andern Röhrchen, so lag Entwicklungshemmung vor.

Auf wieder andere Art verfuhren bei ihren Versuchen zur Wertbestimmung von chemischen Desinfektionsmitteln Krönig und Paul. Paul geht von der Definition der Entwicklungshemmung und Tötung eines Desinfiziens aus. Unter der entwicklungshemmenden

Wirkung eines Stoffes versteht man die Fähigkeit, das Wachstum und die Vermehrung der Bakterien solange zu verhindern, als dieser Stoff im Nährboden der betreffenden Bakterien anwesend ist. Bringt man die Bakterien auf den geeigneten Nährboden zurück, so wachsen sie wieder weiter. Die bakterientötende Wirkung ist dagegen ein so weitgehender Eingriff in die Lebenstätigkeit der Bakterien, daß diese auch nach Entfernung des Desinfektionsmittels nicht im Stande sind, sich weiter zu entwickeln. Krönig und Paul verfahren also nach folgenden Prinzipien:

Eine wässerige Aufschwemmung von Bakterien wird filtriert und an böhmische Tariergranaten angetrocknet. Eine gewisse Menge dieser mit Bakterien beschickten Granaten bringt man in die auf einer bestimmten Temperatur gehaltene Desinfektionslösung, nimmt eine bestimmte Anzahl nach verschiedenen Zeitabschnitten heraus und befreit sie durch Behandeln mit geeigneten Chemikalien von dem noch anhängenden Desinfiziens und spült nochmals mit Wasser nach. Die Granaten werden in Reagensgläschen mit Wasser geschüttelt, wobei die Bakterien von den Granaten losgelöst werden. Die so erhaltene wässerige Bakterienaufschwemmung wird mit einem geeigneten Nährboden gemischt, in Petrischalen ausgegossen und nach gewissen Zeitabschnitten die Zahl der bei einer bestimmten Temperatur entwickelten Kolonien festgestellt. Die Verfasser benutzten zu ihren Versuchen als Repräsentant der vegetativen Bakterienformen den Staphylococcus pyog. aur., als Vertreter der Dauerform Milzbrandsporen. Sie wählten zwei Formen, da die erstere empfindlicher gegen äußere Einflüsse und Giftstoffe ist als die letztere. So sollen Sporen noch nach Verweilen von einigen Stunden in flüssiger Luft (— 190° C), sowie im strömenden Wasserdampf noch ausgekeimt sein. Die geringe Widerstandskraft der vegetativen Form ergibt sich auch aus der

Empfindlichkeit gegen einen Wechsel des osmotischen Drucks der sie umgebenden Flüssigkeit, so daß sie, wenn sie aus Bouillon in reines Wasser oder in eine konzentrierte indifferente Salzlösung gebracht werden, absterben. Die beiden Autoren haben jedoch gezeigt, daß die mit Sporen gewonnenen Resultate sich auch auf die vegetativen Formen übertragen lassen, da die Desinfizientien dieselbe Reihenfolge bezüglich ihrer keimtötenden Wirkung beibehalten. Ferner hat Paul nachgewiesen, daß die mit frischen Bakterienaufschwemmungen angestellten Versuche die gleichen Resultate geben, wie die an Granaten angetrockneten Bakterien. Die genauere Ausführung der Versuche war folgende:

Von etwa 15 Agarröhrchen wurde eine wässerige Bakterienaufschwemmung von ca. 50 ccm hergestellt. Auf die auf Kartoffeln gezüchteten Sporen wurden einige Tropfen sterilen Wassers gebracht, der so entstandene Brei mit Wasser verrieben. Mit Zusatz von Wasser ließ man diesen Brei in einen Schüttelzylinder laufen. Diese Aufschwemmung wurde entsprechend verdünnt. Die sterilen Granaten werden in einem Schüttelzylinder mit der filtrierten wässerigen Bakterienaufschwemmung geschüttelt; dann ließen die Autoren die überschüssige Flüssigkeit auf einen enghalsigen Trichter abtropfen, worauf die so behandelten Granaten auf einem von den Verfassern konstruierten Apparat getrocknet wurden. Die Desinfektionslösung, die auf die Granaten wirkte, war immer durch einen besonderen Apparat auf 18° C gehalten. Nach einer bestimmten Zeit wird dann das Desinfiziens mit Wasser abgespült, ferner noch mit dem das Desinfektionsmittel unschädlich machenden Reagens behandelt. Die Bakterien werden hierauf mit 3 ccm Wasser durch Schütteln im graduierten Probierröhrchen von den Granaten abgespült. Zu dieser Aufschwemmung wurden 12 ccm verflüssigter auf 42° C abgekühlter Agar gebracht, die

Mischung auf Petrischalen ausgegossen und nach Erstarrung des Agars in den Brutschrank gestellt. Nach 24 Stunden wurden die gewachsenen Kolonien gezählt und nach 2 und 3 Tagen die noch dazugewachsenen. Nun ist die Möglichkeit vorhanden, daß Bakterien auf einem bestimmten Nährboden nicht mehr wachsen, daß sie aber auf einem für sie günstigeren sich noch weiter entwickeln könnten; deshalb warnt Paul den Ausdruck Desinfektion im Sinne des Wortes Abtötung aufzufassen. Er versteht vielmehr unter Desinfektion, daß ein Mittel so auf Bakterien eingewirkt hat, daß diese nicht mehr auf einem bestimmten Nährboden unter bestimmten Temperaturverhältnissen aufkeimen und sich vermehren, womit nicht gesagt sein soll, daß die Bakterien auch wirklich abgestorben sind. Als Desinfiziens benützten die Verfasser Sublimatlösung und zum Vergleich der Wirkung eine wässerige Lösung der offizinellen Sublimatpastillen bei gleichem Gehalt an Sublimat. Die in die Lösung gebrachten Granaten entnahmen sie nach verschiedenen Zeiten. Das Resultat ergab bei der Lösung, daß schon nach 12 Minuten keine Sporen mehr wuchsen, bei den Pastillen dagegen erst nach 42 Minuten. Das Verhalten der einzelnen Individuen ist allerdings auch verschieden, selbst bei den vegetativen Formen. Darum ist zum Vergleich verschiedener Desinfizientien stets eine gleiche Anzahl von Bakterien zu verwenden, deshalb ist es auch nicht nötig, die keimtötende Wirkung der Desinfektionsmittel in absolutem Maße anzugeben, zumal da die zu verschiedenen Zeiten hergestellte Bakterienemulsion nicht die gleiche Menge gleich widerstandsfähiger Individuen enthalten kann.

Zu ihren weiteren Versuchen verwandten die Autoren wässerige Quecksilber-Bichloridlösung, deren Konzentration sie entsprechend dem Molekulargewicht nahmen, bei Sublimat 271. Sie fertigten also eine Lösung an, die 271 g $HgCl_2$ in 8 Liter Wasser (= 3,38 %) enthielt,

verdünnten diese Lösung weiter, indem sie 125 ccm in Maßkolben von 250, 500, 1000 ccm Inhalt mit Wasser auffüllten, so daß sie eine 16literige (= 1,69%), 32-literige (= 0,84%), eine 64literige (= 0,42%) etc.-Lösung erhielten. Diese Lösung ließen sie verschieden lange Zeit einwirken, stellten die Resultate von 6 Kulturen zu je 5 Granaten fest und zogen aus den gewachsenen Kolonien das Mittel. Die Verfasser halten diese Methode für die beste, da die Zahl der keimfähig gebliebenen Sporen, die Kolonien gebildet haben, unter sonst gleichen Bedingungen nur von der Dauer der Einwirkung und von der Konzentration der Lösung sich abhängig zeigte und Unregelmäßigkeiten nicht auftraten. Ferner kommen Paul und Krönig zu dem Resultat, daß die Zeit, die zur Abtötung der Bakterien nötig ist, nicht proportional der Konzentration ist, d. h. eine halb so starke Lösung braucht nicht die doppelte Zeit, um den Desinfektionseffekt hervorzurufen. Die Desinfektionswirkung soll bei Metallsalzen (Elekrolyten) von der elektrolytischen Dissoziation beeinflußt werden. So zeigten die Verfasser, daß bei den Halogenverbindungen des Quecksilbers die Desinfektionskraft in der gleichen Reihenfolge sich vollzieht, die ihrem elektrolytischen Dissoziationsgrad zukommt, daß also die Konzentration des Metallions Quecksilber die ausschlaggebende Rolle spielt. Setzt man der wässerigen Quecksilber-Bichloridlösung Kochsalz in steigender Menge zu, so wird die Konzentration der Quecksilberionen und dadurch auch die Desinfektionskraft, d. h. Giftwirkung der Sublimatlösung vermindert. Doch nimmt der Unterschied der Quecksilberionen und damit auch der Desinfektionswirkung mit zunehmender Verdünnung ab.

Die Frage der Theorie der Desinfektionswirkung kam namentlich für Phenol durch Scheurlens Arbeit zur Diskussion. Die Phenole sollen ebenso wie anorganische Salze, mit Wasser Hydrate bilden. Der

Hydratgehalt ist bei schwachen Lösungen ein größerer, bei konzentrierten ein geringerer, ähnlich wie in einer grünen konzentrierten Kupfer-Chloridlösung das Kupferchlorid sich mit 4 Molekülen Hydratwasser, die schwächere blaue Lösung mit 12 Molekülen Hydratwasser vereinigt hat. Beim Erhitzen geben die Hydrate das Wasser ab oder wenn man der Phenollösung Kochsalz zusetzt, erreicht man dasselbe. Dadurch wird das Molekül des Phenols einer 1% Lösung in den gleichen Zustand, den das Molekül der 6% Lösung hat, gebracht. Mit diesem Verfahren hat der Verfasser mit schwachen Desinfektionslösungen die gleichen Wirkungen erzielt, wie es sonst nur die starken haben.

Bei seinen Versuchen mit Salzlösungen des Phenols kommt Römer zu den gleichen Resultaten wie Scheurlen. Er benützt Milzbrandemulsionen, die auf Agar in 24 Stunden bei 37° C gezüchtet und auf Röhrchen mit schrägerstarrtem, peptonfreiem Fleischwasseragar übertragen wurden. Die darauf in 24 Stunden bei 37° gewachsenen Kulturen wurden in 10 ccm steriles Wasser gebracht und eine halbe Stunde auf 70° erhitzt (zur Tötung der vegetativen Formen). Hierauf wurde ein bestimmtes Quantum der Emulsion mit einer bestimmten Menge Phenol- bezw. Phenolsalzlösung gemengt und diese Mischung bei 22° C im Dunkeln aufbewahrt. Dann wurden nach 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 und 7 Tage je 3 Ösen in 10 ccm steriles Wasser getan, um das den Sporen anhaftende Desinfiziens möglichst zu verdünnen und unschädlich zu machen. Dann kamen wieder 3 Ösen zur Aussaat in Gelatine, die in Petrischalen gegossen wurden. Nun wurden fünf Versuche angestellt, in dem ersten bestand die Versuchslösung aus 1% Phenollösung, im zweiten aus 1% Phenollösung und 11,8% Kochsalz, im dritten aus 1% Phenol und 14,2% Natriumsulfat, im vierten aus 1% Phenol und 14,0% Natriumnitrit und im fünften aus 1% Phenol und 13,2% Ammonium-

sulfat; zu jeder Versuchslösuung wurden je 1 ccm Sporenaufschwemmung zugesetzt. Die in der ersten Mischung enthaltenen Sporen keimten auf der Gußplatte am 8. Tage noch so reichlich wie am ersten, dagegen in den andern waren die Sporen am 7. Tage vernichtet. Römer glaubt aber nicht die gesteigerte Desinfektionswirkung auf eine Veränderung des Molekularzustandes zurückführen zu müssen, sondern er erklärt die stärkere Desinfektionskraft mit einer größeren eiweißausfällenden Wirkung der Phenolsalzlösungen. Diese Anschauung begründet er mit der von ihm festgestellten Tatsache, daß, je größere Mengen Kochsalz zu einer 3% Phenollösung gebracht werden, um so schneller Milzbrandsporen, die in diese Lösung hineingebracht werden, absterben. Ferner ist nach seiner Ansicht durch das Kochsalz eine Quellung und Lockerung der Sporenmembran eingetreten und dadurch die schnellere Abtötung erklärt.

Auch Beckmann bestätigt gleichfalls den Befund Scheurlens, daß die Wirkung des Phenols durch Zusatz von Kochsalz verstärkt wird. Staphylococcen werden in einer halben Minute durch eine 1% Lösung von Phenol mit 2% Kochsalz, Milzbrandsporen in 24 Stunden durch 1% Lösung mit 24% Kochsalz vernichtet. Doch bezweifelt Beckmann die Richtigkeit der von Scheurlen für die Verstärkung der Desinfektion gegebenen Erklärung, daß infolge der wasserentziehenden Eigenschaften das Kochsalz in dem Gemisch nicht, wie bei gewöhnlicher Phenollösung, Phenolhydrat, sondern reines Phenol wirksam sei; ja es sei nicht einmal erwiesen, daß es Phenolhydrate gebe.

Dagegen führen die verstärkte Desinfektionswirkung des Phenols durch Zusatz von Salzen Spiro und Bruns auf molekulare Vorgänge zurück. Sie glauben nicht an Römers Ansicht über die Quellung und Auflockerung der Bakterienmembran und der dadurch bedingten Desinfektionserhöhung. Sie zeigten vielmehr, daß es

sich um Lösungserscheinungen handeln muß. Wie zwischen Salzen und ihren Lösungsmitteln (Phenol und Wasser) eine Affinität besteht, so besteht sie auch zwischen Bakterien und Phenol, die zur Aneinanderlagerung der beiden Körper führt. Diese Affinität unterscheidet sich von der chemischen durch die leichte Reversibilität, daher wird das Phenol bei der Desinfektion scheinbar nicht verbraucht. Diese additionelle Eigenschaft einer gewissen Gruppe, zu der das Phenol gehört, unterscheidet es von einer andern großen Gruppe, die in dissoziiertem Zustand mit dem zu desinfizierenden Körper Ionenreaktion eingeht.

Nachdem verschiedene Methoden zur Prüfung von Desinfektionsmitteln auf ihre keimtötende Kraft erwähnt worden sind, möchte ich noch zwei aus der letzten Zeit stammende Arbeiten anführen, welche die Desinfektionsmittel und ihre Prüfung behandeln.

Die eine Arbeit, die von Bechhold stammt, formuliert ihre Forderung an ein Desinfiziens folgendermaßen: höchste keimtötende Wirkung unter allen Verhältnissen, Ungiftigkeit, Geruchlosigkeit und physikalische Eigenschaften, die seine Anwendung ermöglichen. Unsere besten Antiseptika erfüllen diese Forderungen nur zum Teil. Er wendet gegen die üblichen Verfahren der Prüfung des Wirkungswertes eines Desinfiziens ein, daß die zu den Versuchen verwendeten Bakterien vor dem Abtöten ein Stadium der Abschwächung durchmachen, indem sie in einem Nährboden von minimalen Gehalt an Desinfiziens nicht mehr zu wachsen vermögen. Auch bei Überimpfung auf das Tier kann das Desinfektionsmittel nachwirken und es genügen äußerst geringe Mengen, um die abgeschwächten Keime an der Vermehrung, d. h. Infektion des Tieres zu verhindern. Deshalb soll zur Entfernung des Desinfektionsmittels schwach alkalische physiologische Kochsalzlösung verwandt werden und nicht chemische Mittel. Verfasser hält die Prüfung eines Desinfektionsmittels an einer Bakterienart

für ungenügend. Bei seinen Versuchen soll sich eine spezifische Wirkung bestimmter Desinfektionsmittel auf bestimmte Mikroorganismen gezeigt haben. Darum ist es auch zweifelhaft, ein ideales, also ein gegen alle Bakterien wirksames Desinfiziens zu finden.

In der anderen Arbeit faßt Schneider in anderer Art zusammen, was zu einer praktischen Desinfektionsmittelprüfung nach den gegenwärtigen Anforderungen gehört. Er rechnet hierzu eine genaue Schilderung der Ausführungen der Prüfung mit Angabe über die angewandten Nährböden, die Art, das Alter, die Zubereitung und Menge des Testmaterials. Ferner die Herstellung und Konzentration der Desinfektionsmittellösungen, die Menge der Desinfektionsmischung, die auf den Nährboden übertragen wird. Dann die Temperatur, die Beobachtungsdauer des Desinfektionsversuchs, das Verhalten des zum Vergleich herangezogenen Desinfektionsmittels. Mit bekannter Wirkung unter gleichen Bedingungen wird (für Kresolpräparate) das Phenol benützt. Ein häufig begangener Hauptfehler ist, daß die Entwicklungshemmung und die Desinfektionswirkung verwechselt und nicht genau auseinandergehalten werden. Hierdurch erklären sich nach Ansicht des Verfassers die Widersprüche über die Wirksamkeit ein und desselben Desinfektionsmittels bei verschiedenen Untersuchern.

Die bisherigen Versuche zur Prüfung der keimtötenden Kraft eines Desinfiziens berücksichtigen nur die Konzentration der Desinfektionslösung, die Dauer der Einwirkung und die Art der zum Versuch verwandten Mikroorganismen, lassen aber die absolute Menge des Desinfiziens und die absolute Anzahl der abzutötenden Bakterien außer Acht. Wir schreiben den letztgenannten beiden Momenten einen wesentlichen Einfluß bei der Feststellung der Desinfektionskraft eines Mittels zu. Es liegt der Gedanke nahe, daß eine be-

stimmte Bakterienzahl eine bestimmte Menge des Desinfektionsmittels zur Abtötung benötigt und daß bei einem Desinfektionsversuch Keimfreiheit nur dann eintritt, wenn das Desinfiziens absolut genommen, im Überschuß vorhanden ist; bei gleicher Bakterienzahl, aber bei quantitativ verschiedener Abstufung der Desinfektionslösung muß demnach eine Grenze der Wirksamkeit, d. h. der Keimtötung festzustellen sein. Die Voraussetzung ist natürlich dabei, daß jedes Bakterium eine bestimmte Menge des Desinfektionsmittels zu seiner Tötung nötig hat, resp. daß jeder Bakterienkörper eine bestimmte Menge Desinfiziens an sein Protoplasma zu verankern vermag und daß man die Desinfektionslösung im Versuch so lange einwirken läßt, bis die Reaktion vollständig abgelaufen ist.

Bei unsern Versuchen benützten wir das Phenol, weil die Desinfektionskraft dieses Mittels aus praktischen Versuchen anderer Autoren gut bekannt ist und weil es für uns wegen seiner titrimetrischen Bestimmbarkeit besonders geeignet erschien. Zur Bestimmung seiner Desinfektionswirkung wurde das Bacterium coli gewählt, ein Bakterium, das überall und in großen Mengen leicht zu beschaffen ist. Eine gut gewachsene Agarkultur desselben wurde mit alkalischer Bouillon abgeschwemmt und mit dieser Aufschwemmung ca. 18 Glyzerinagarplatten in Oberflächenaussaat beimpft. Nach 24stündigem Wachstum bei 37° C Brutofentemperatur wurden die auf den Schalen gewachsenen Kulturen mittels physiologischer steriler Kochsalzlösung aufgenommen, in ein steriles Erlenmeyerkölbchen gebracht und durch Schütteln homogen verteilt.

Zu gleichen Teilen dieser Kolisuspension wurden fallende Mengen von Karbolsäure gegossen. Dabei kamen drei verschiedene Konzentrationen zur Benützung, eine 10% — (die 10% Lösung war natürlich eine Emulsion, die vor jeder Benützung kräftig durchgeschüttelt wurde) —

eine 1%- und eine 1‰ Phenollösung. Für jede Konzentration benützten wir eine Reihe von 10 sterilen, mit Wattepfropf verschlossenen Reagensröhrchen. In jedes Röhrchen wurden mit 1,0 ccm beginnend in absteigender Reihe 0,9, 0,8 etc. bis 0,1 ccm Phenol gegeben, so daß zwischen je zwei aufeinanderfolgenden Röhrchen eine Differenz von 0,1 ccm bestand. Dieses Verfahren wurde für alle drei Lösungen durchgeführt, dann wurden alle Röhrchen mit physiologischer steriler Kochsalzlösung auf gleichen Inhalt aufgefüllt und zwar auf 3 ccm. Dazu gaben wir von der hergestellten Koliaufschwemmung in jedes Röhrchen je 2 ccm und ferner noch je 5 ccm sterile schwach alkalische Nährbouillon, so daß also in jedem der 30 Röhrchen 10 ccm Gesamtinhalt war. Diese wurden darauf für 24 Stunden in den Brutschrank bei 37° gebracht. Nach Ablauf dieser Zeit schütteten wir von jedem Röhrchen etwa 1 ccm in ein Reagensröhrchen, das 9 ccm sterile Bouillon enthielt[2]. Dann wurden die Röhrchen geschüttelt, bis eine gleichmäßige Verteilung eingetreten war. Diese neuen Reihen kamen wieder 24 Stunden in den Brutschrank bei 37° C. Nach Verlauf dieser Zeit wurden die Röhrchen auf Wachstum kontrolliert und dadurch die Grenze der eingetretenen Abtötung festgestellt. Die nach dieser Zeit sich ergebenden Resultate wurden als Endresultate angesehen, da verschiedene Untersuchungen, die sich auf 2—3 Tage erstrecken, keine Veränderungen des Endresultates ergaben.[1] In jedem Röhrchen waren nur noch solche Verdünnungen des Phenols vorhanden, daß eine Hemmung durch das Desinfektionsmittel ausgeschlossen war. Die Verdünnung gestaltete sich z. B. für das erste Röhrchen, das 1 ccm der 10% Phenollösung enthielt, folgendermaßen: Das 1. Röhrchen erhielt

[1] Auch Probeimpfungen auf frische Nährböden ergaben kein Wachstum mehr, es lag also wirkliche Abtötung, keine Hemmung vor. — [2] cf. S. 24 unten.

die absolute Menge von 0,1 ccm Phenol, da dieses auf 10 ccm aufgefüllt war und da hiervon wieder 1 ccm auf 9 ccm Bouillon in ein zweites Röhrchen gegeben wurde, so erhielt dieses die absolute Menge von 0,01 und eine Verdünnung von 1 : 10000. Für die übrigen Röhrchen ergaben sich entsprechend kleinere Werte. Diese Mengen kommen für eine Bakterienhemmung bei Phenol kaum noch in Betracht. Außerdem beweist das eintretende Bakteriumwachstum gleich in unserem ersten Versuch die Richtigkeit dieser Annahme.

I. Versuch:

Jede Vertikalreihe der Tabellen gibt die Menge der in die einzelnen Röhrchen eingefüllten Flüssigkeit an:

10% Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
0,85% Na Cl	2,0	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9
Koli-Aufschw.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Bouillon	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

1% Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
0,85% Na Cl	2,0	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9
Koli-Aufschw.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Bouillon	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

1‰ Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
0,85% Na Cl	2,0	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9
Koli-Aufschw.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Bouillon	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

Die Röhrchen blieben 24 Stunden bei 37°, dann wurde, wie oben angegeben, auf je zwei hintereinander geschaltete Röhrchen mit je 9 ccm steriler Bouillon abgeimpft und diese 24 Stunden bebrütet. Das Resultat

ist in den folgenden Tabellen in der Weise dargestellt, daß die absolute Karbolsäuremenge der obenstehenden Reihen nochmals erwähnt und falls dieselben Keimfreiheit bewirkt hatten, durch Kreuzchen kenntlich gemacht sind.

I. Versuch

	+	+	+							
10 % Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
1 % Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
1 ‰ Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1

Es ergibt sich demnach nur bei der 10 % Karbolsäure und nur bei den ersten drei Konzentrationen Keimfreiheit, in allen andern sind Koli gewachsen, denn diese Röhrchen zeigten makroskopisch Trübung, mikroskopisch reichlich Koli.

Ein Kontrollversuch ergab Keimtötung bei 1,0 und 0,9 ccm Phenol. Selbstverständlich hat man bei diesen Versuchen mit Fehlerquellen zu rechnen, wie sie sich z. B. durch die verschiedenen Koliaufschwemmungen bei den verschiedenen neuen Versuchen ergaben, denn diese können nur annähernd gleich dicht hergestellt werden, auch wenn immer der gleiche Kolistamm und gleiche Versuchsanordnung verwandt wurden. Der Ausfall dieses Versuchs entsprach den Erwartungen und wir gingen nun zu einer geringeren Kolimenge über, denn dann muß auch eine kleinere Menge Phenol genügen, um Koli zur Abtötung zu bringen. Im übrigen war das Verfahren geradeso wie es die ersten Tabellen angeben, nur daß wir statt 2 ccm Koli, 1 ccm und statt 5 ccm Bouillon 6 ccm nahmen, so daß der Gesamtinhalt wieder 10 ccm ausmachte. In der Folge konnten wir von der Mitverwendung der 1 ‰ Karbolsäurekonzentration Abstand nehmen, denn in beiden vorhergehenden

Fällen trat bei ihr keine Abtötung ein und es war nicht zu erwarten, wie es sich später auch immer zeigte, daß die Abtötung soweit herabgehen würde. Wir benützten zu den Versuchen also nur noch die 10 und 1 % Karbolsäure. Der Annahme entsprechend ergab sich nach Ausführung des Versuchs folgendes Resulsat:

II. Versuch.

1 ccm Koli.

	+		−	+	+					
10% Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0 1
1% Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0 1

Es war demnach bis zu 0,6 ccm absoluter Phenolmenge Keimtötung eingetreten. Der Ausfall dieses Versuchs veranlaßte eine Variation des Kontrollversuchs. Wir benützten dieselbe Koliaufschwemmung, brachten sie aber in zwei verschiedenen Abstufungen 1,0 und 1,5 ccm in Reaktion, so daß sich folgende Reihen ergaben, bei denen nur die 10 % Säure in Anwendung kam:

10% Säure	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
0,85% Na Cl	2,0	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9
Koli-Aufschw.	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Bouillon	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5

10% Säure	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0.4	0,3	0,2	0,1
0,85% Na Cl	2,0	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9
Koliaufschw.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Bouillon	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0

Der Unterschied der Kolimengen war zu gering genommen, als daß wir eine große Differenz der Abtötung bekamen, ja sogar das Gegenteil trat diesmal ein. Statt der zu erwartenden Abtötung der geringeren Koli-

menge durch weniger Phenol war dieses Ergebnis zutage getreten:

III. Versuch.

10 % Phenol + 1,5 ccm Koli	+ 1,0	+ 0,9	+ 0,8	+ 0,7	+ 0,6	+ 0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
10 % Phenol + 1 ccm Koli	+ 1,0	+ 0,9	+ 0,8	+ 0,7	+ 0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1

Den Grund für den unerwarteten Ausfall des Versuchs suchten wir zunächst darin, daß die Unterschiede zwischen den beiden Kolimengen zu gering gewählt gewesen seien, oder daß dieses Ergebnis mehr einem unglücklichen Zufall bei der Ausführung des Versuchs zuzuschreiben wäre. Um also auf alle Fälle einen großen Abtötungsunterschied zu bekommen, wenn überhaupt auf diesem Wege weiter zu kommen ist, nahmen wir dieses Mal 2,0 ccm zu der einen und 0,4 ccm Koliaufschwemmung zu der andern Versuchsreihe. Jetzt benützten wir auch wieder die 1 % Karbolsäure, da ja die Möglichkeit vorhanden war, daß bei der geringeren Bakterienmenge die Wachstumshemmungsgrenze bedeutend nach unten zu den kleineren Säuremengen sich verschieben würde. Wir hatten also folgende Versuchsreihen hergerichtet:

10 % Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0 1
0,85 % Na Cl	2,0	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2 9
Koli-Aufschw.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Bouillon	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

10 % Säure	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
0,85 % Na Cl	2,0	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9
Koli-Aufschw.	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Bouillon	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6

1 % Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
0,85 % Na Cl	2,0	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9
Koli-Aufschw.	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Bouillon	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6

Nach 24 Stunden kamen, wie bereits angegeben, je 1 ccm von diesen Röhrchen auf 9 ccm Bouillon und nach weiteren 24 Stunden Brutschranktemperatur hatten wir diese Resultate zu verzeichnen (IV. Versuch):

2 ccm Koli + 10 % Säure	+ 1,0	+ 0,9	+ 0,8	+ 0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1

In der Reihe, in der in einem Röhrchen 2 ccm Koli nebst 10 %igem Phenol war, hatten wir in den vier ersten Röhrchen, d. h. in denjenigen, die ursprünglich die größte Karbolsäuremenge enthielten, Keimtötung erhalten. Das Endresultat der andern beiden, nur 0,4 ccm Koli enthaltenden Reihen, nahm sich so aus:

IV. Versuch:

0,4 Koli + 10 % Säure	+ 1,0	+ 0,9	+ 0,8	+ 0,7	+ 0,6	+ 0,5	+ 0,4	0,3	0,2	0,1

0,4 Koli + 1 % Säure	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1

Es zeigt sich demnach bei diesem Ausfall, daß bei geringerer Kolimenge eine kleinere Phenolmenge genügt, um die Bakterien nicht mehr wachsen zu lassen. Die Versuche gedachten wir nun in der Weise fortzusetzen,

daß wir in den zu gebrauchenden Kolimengen noch größere Differenzen nahmen, um daraus die Bestätigung unserer vorigen Versuche in möglichst drastischer Weise zu bekommen. Deshalb benützten wir Mengen von 2,0 und 0,2 ccm Koliaufschwemmung, also Mengen, die im Verhältnis 1 : 10 standen. Die Reihen gestalten sich also so:

10 % Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
0,85 % Na Cl	2,0	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9
Koli-Aufschw.	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Bouillon	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

10 % Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
0,85 % Na Cl	2,0	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9
Koli-Aufschw.	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Bouillon	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8

1 % Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
0,85 % Na Cl	2,0	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9
Koli-Aufschw.	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Bouillon	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8

Nach dem üblichen Verfahren zeigte das Resultat folgendes Bild:

V. Versuch:

10 % Phenol + 2,0 ccm Koli	+ 1,0	+ 0,9	+ 0,8	+ 0,7	+ 0,6	+ 0,5	0,4	0,3	0,2	0,1

10 % Phenol + 0,2 ccm Koli	+ 1,0	+ 0,9	+ 0,8	+ 0,7	+ 0,6	+ 0,5	0,4	0,3	0,2	0,1

10 % Phenol + 0,2 ccm Koli	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1

Die Hoffnung, die Abtötungsgrenzen würden sich noch weiter bei den verschiedenen verwandten Kolimengen entfernen, erwies sich demnach als trügerisch, denn nun war bei beiden Kolimengen genau das gleiche Resultat, eine Wachstumsgrenze, die sich bis zu einer absoluten Menge von 0,5 ccm des 10 % Phenols erstreckte. Der Versuch wurde mit einer neuen Koliaufschwemmung wiederholt und dieser ergab genau das gleiche Resultat wie der oben festgestellte. Genau an derselben Stelle bei 0,5 ccm des 10 % Phenols hatte die Abtötung ein Ende. Die bisherigen Versuche würden also dafür sprechen, daß ein genau festzustellendes Wechselverhältnis zwischen verschiedenen Kolimengen und entsprechenden Phenolmengen, die sie zur Abtötung bringen, nur in weiten Grenzen besteht. Allerdings kommt bei dem Ausfall der Versuche mit 0,2 ccm Koliaufschwemmung noch ein Punkt in Betracht; dies ist die größere Menge Bouillon, die zur Auffüllung auf 10 ccm Inhalt eines Röhrchens verbraucht wurde. Da es denkbar ist, daß Bouillon an sich auch schon Phenol bindet, und daß eine entsprechend größere Bouillonmenge auch eine größere Phenolmenge unwirksam machen kann, die für die Bakterienwirkung nicht mehr in Betracht kommt, machten wir zur Aufklärung den Versuch mit 0,2 ccm Koli und verschiedener Bouillonmenge. Außer in der oben angegebenen Weise stellten wir noch eine Reihe mit derselben Aufschwemmung her, die nur 1 ccm Bouillon und sonst sterile Kochsalzlösung zur Auffüllung auf

10 ccm Gesamtinhalt enthielt, bei ebenfalls fallenden Phenolmengen. Diese Reihe stellte sich also so dar:

10% Phenol	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
0,85% Na Cl	7,8	7,9	8,0	8,1	8,2	8,3	8,4	8,5	8,6	8,7
Koli-Aufschw.	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Bouillon	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Das Ergebnis unterschied sich dann von den vorigen in der Weise:

VI. Versuch:

10% Phenol + 0,2 ccm Koli	+ 1,0	+ 0,9	+ 0,8	+ 0,7	+ 0,6	+ 0,5	+ 0,4	+ 0,3	+ 0,2	0,1

Statt der Abtötung bis 0,5 ccm absoluter Phenolmenge bei dem letzten Versuch ging diese jetzt bis 0,2 ccm. Dieses Resultat spricht demnach für die Störung der Phenolwirkung durch eine größere Bouillonmenge, denn der Versuch zeigt, daß hier mehr ungebundene Säure vorhanden ist, so daß also eine kleinere Phenolmenge noch Koli abtöten kann oder die Phenolwirkung ist auf die größere Kochsalzmenge zurückzuführen. Eine vitale Abschwächung infolge des geringen Nährmaterials ist nicht vorhanden. Versuchsweise wurden nämlich Koli wochenlang in solch geringer Nährbodenmenge aufbewahrt, ja sogar in reiner physiologischer Kochsalzlösung haben sich Koli lange gehalten.

Bisher waren alle Röhrchen auf 10 ccm Inhalt gebracht worden, um in allen die gleiche Konzentration zu haben. Ebenso wie die absolute Menge konnte auch die Konzentration des Phenols einen Einfluß auf die Abtötung der Keime haben, deshalb stellten wir folgende Versuche an: Wir nahmen vier sterile Röhrchen mit

dem gleichen Inhalt an Koliaufschwemmung, Phenol und Bouillon, variierten dabei die Gesamtmenge durch Auffüllen mit steriler physiologischer Kochsalzlösung in der Weise, daß im

1. Röhrchen 5 ccm Gesamtinhalt
2. „ 10 „ „
3. „ 15 „ „
4. „ 20 „ „

war. Diese Röhrchen ließen wir nun 24 Stunden im Brutschrank bei 37° C stehen und gossen dann je 1 ccm in Röhrchen mit 9 ccm schwach alkalischer steriler Bouillen und warteten weitere 24 Stunden das Ergebnis ab. Zur besseren Übersicht ist auch diese Versuchsanordnung tabellarisch dargestellt und dabei noch die Konzentration und die absolute Phenolmenge berechnet. Da die absolute Phenolmenge in allen vier Röhrchen 0,4 ccm einer 10 % Lösung beträgt, so ergibt sich ein Mengenverhältnis von 0,04 ccm Phenol. Die Konzentration für das erste Röhrchen ergibt z. B. 0,8 % da wir einen Gesamtinhalt von 5 ccm und eine absolute Menge von 0,04 ccm Phenol haben.

	I. 5 ccm Inhalt	II. 10 ccm	III. 15 ccm	IV. 20 ccm
Bouillon	4,0	4,0	4,0	4,0
Koli	0,4	0,4	0,4	0,4
0,85 % Na Cl	0,2	5,2	10,2	15,2
10 % Phenol	0,4	0,4	0,4	0,4
Konzentration in %	0,8 %	0,4 %	0,27 %	0,2 %
Absolute Phenolmenge	0,04	0,04	0,04	0,04

Das Resultat war überall, trotz der verschiedenen Konzentrationen, Wachstum, also bei allen Röhrchen das gleiche. Stimmt der Versuch, so muß bei doppelter Phenolmenge nach den vorherigen Resultaten (Versuch I, II, III etc., wo überall bei 0,8 ccm Phenolmenge Keimtötung eingetreten ist) überall Abtötung eintreten. Wir machten denselben Versuch nochmals, mit 0,8 ccm Phenol, sonst nach der gleichen Methode, nur war in dem ersten Röhrchen keine Kochsalzlösung enthalten, da dessen Gesamtinhalt mit der Bouillon allein 5,2 ccm ausmachte.

	I. 5,2 ccm	II. 10 ccm	III. 15 ccm	IV. 20 ccm
Bouillon	4,0	4,0	4,0	4,0
Koli	0,4	0,4	0,4	0,4
0,85 % Na Cl		4,8	9,8	14,8
10 % Phenol	0,8	0,8	0,8	0,8
Konzentration in %	1,5 %	0,8 %	0,53 %	0,4 %
Absolute Phenolmenge	0,08	0,08	0,08	0,08

Bei allen vier Röhrchen trat Keimtötung ein, dies würde also bedeuten, daß weniger die Konzentration, sondern vor allem die absolute Phenolmenge von Einfluß auf die Abtötung der Bakterien ist.

Auf Grund dieses Ergebnisses wurde der Kontrollversuch zu Versuch 6 variiert. Statt der 10 % Phenollösung kam eine doppelte Menge einer 5 % Lösung zur Verwendung. Das Ergebnis war genau das gleiche wie das beim obigen Versuch erhaltene. Von den letzten Reihen wurde nochmals auf schrägerstarrten Glyzerinagar übergeimpft, ohne daß das Ergebnis sich änderte,

d. h. nur aus dem Inhalt des letzten Röhrchens mit 0,1 ccm Phenol übergeimpftes Material zeigte Wachstum auf dem Agar, die übrigen waren steril geblieben.

Unsere Versuche zur quantitativen Auswertung der keimtötenden Kraft von Phenol mit Hilfe abgemessener Bakterienaufschwemmungen haben demnach ergeben, daß unter den angewandten Versuchsbedingungen nur in weiten Grenzen eine gesetzmäßige Beziehung zwischen der absoluten Menge des Desinfektionsmittels und der Anzahl der abzutötenden Bakterien sich finden läßt; immerhin konnten wir durch den Versuch II, III, IV nachweisen, daß eine solche tatsächlich vorhanden ist. Wenn daher unsere bisherigen Ergebnisse uns auch noch nicht in den Stand setzen, eine neue einwandsfreie Desinfektionsmittelprüfung anzugeben, so haben sie doch einen Fehler der bisher üblichen Prüfungsmethoden aufgedeckt und gezeigt, daß es nicht zulässig ist zur quantitativen Ausmessung der keimtötenden Kraft des Phenols nur die Konzentration des angewandten Desinfiziens zu berücksichtigen, sondern daß die absolute Menge desselben dabei von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Auch an dieser Stelle möchte ich mir erlauben, Herrn Prof. Küster für die Überlassung des Themas und besonders für seine bereitwillige Unterstützung bei der Ausführung der Versuche zu danken. Ebenso bin ich Herrn Geh. Hofrat Schottelius für die Übernahme des Referates zu Danke verpflichtet.

Lebenslauf.

Ich bin am 14. Februar 1886 in Freiburg i. B. als Sohn des Kaufmanns Hermann Meyer geboren. Ich besuchte die Volksschule und das humanistische Gymnasium meiner Vaterstadt. Nach Erlangen des Zeugnisses der Reife im Jahre 1905 widmete ich mich dem Studium der Medizin an den Universitäten München und Freiburg. Hier beendigte ich das Tentamen physicum im Februar 1908 und das Staatsexamen im Dezember 1910.

Literaturverzeichnis.

Beckmann, Wiardi: „Über den Einfluß des Zusatzes von Kochsalz auf die Wirkung des Phenols.“ Ref. Zentralblatt für Bakteriologie. Bd. 20.

Bechhold: „Desinfektionsmittel und ihre Prüfung.“ Zeitschrift für angewandte Chemie. 1909. S. 2033. Ref. Zentralblatt f. Bakteriologie. Bd. 45.

Bellei, G.: „Verbesserte Methode zur Bestimmung des Wertes von Desinfektionsmitteln.“ Münch. med. Woch. 1904. No. 7. Ref. Hyg. Rundschau. Bd. 15.

Geppert, G.: „Zur Lehre von den Antisepticis.“ Berl. klin. Woch. 1889. S. 189.

Gruber, Max: „Die Methoden der Prüfung von Desinfizientien.“ VII. Internat. Kongreß für Hygiene und Demographie in London. 1891. Ref. Zentralblatt für Bakter. Bd. 11.

Heiderich, J.: „Über die Wirksamkeit der Desinfektionsmittel bei erhöhter Temperatur.“ Ref. Archiv für Hygiene. Bd. 15.

Rapp, Rud.: „Beitrag zur Wertbestimmung chem. Desinfektionsmittel.“ Zentralbl. für Bakt. Bd. 41.

Remouchamps et Sugg: „L'acide phénique, la créoline et le lysol, étude comparative de leuraction sur divers microorganismes.“ Ref. Hyg. Rundschau 1891.

Römer: „Über Desinfektion von Milzbrandsporen durch Phenol in Verbindung mit Salzen.“ Münch. med. Woch. 1898. No. 10. Ref. Baumgarten, Jahresberichte. Bd. 14. Ref. Hyg. Rundschau. Bd. 9. 1899.

Scheurlen: „Die Bedeutung des Molekularzustandes der wassergelösten Desinfektionsmittel für ihren Wirkungs

wert.“ Archiv für exper. Pharm. Bd. 37. Ref. Zentralbl. für Bakteriol. Bd. 19. 1896.

Serpowsky: „Zur Methodik der Prüfung von Desinfektionsmitteln.“ Ref. Zentralblatt für Bakteriol. Bd. 39. S. 800.

Schneider, H: „Ein Beitrag zur Kenntnis der Phenole in Verbindung mit Säuren und Gemischen mit Seifen vom chem. und bakteriol. Standpunkt aus.“ Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten.

Schneider, H. und Seeligmann: „Studien zur Wertbestimmung chem. Desinfektionsmittel.“ Ref. Zeitschrift für Hygiene. Bd. 58.

Schneider, H.: „Über Desinfektionsmittelprüfung und neuere Desinfektionsmittel.“ Deutsche med. Woch. 1909. Ref. Hyg. Rundschau. Bd. 19. S. 1251.

Spiro und Bruns: „Zur Theorie der Desinfektion.“ Archiv für exper. Pharm. und Path. Bd. 41. Ref. Hyg. Rundschau. Bd. 9. S. 1367.

Walliczek, H.: „Zur Technik b. Desinfektionsversuchen.“ Zentralblatt für Bakteriol. Bd. 15. S. 947.